

## 広島市で分離された腸管出血性大腸菌の薬剤耐性遺伝子解析

### 生物科学部

#### はじめに

腸管出血性大腸菌(EHEC)感染症は、先進国において重要な腸管感染症である。わが国では3類感染症に指定され、全国各地で発生している本菌を原因とした散発あるいは集団事例の発生が届け出され、その防疫措置が行われてその蔓延防止の行政措置が行われている。

広島市においても発症者およびその接触者の検査が行われる感染症であり、本菌の抗生物質等の抗菌薬剤に対する耐性状況を把握しておくことも、本菌感染症の治療と公衆衛生的見地から重要である。

このことから、本市で分離される腸管出血性大腸菌の薬剤耐性傾向をモニターすることを目的として、従来より6薬剤に対する薬剤耐性傾向を調べているが、より詳細な耐性因子の保有状況を把握するため、耐性遺伝子の保有を広島大学大学院生物圏研究科食品衛生学研究室と共同研究として調査したので報告する。

#### 方法

##### 1 菌株

2005年に広島市において分離されたヒト由来の腸管出血性大腸菌9株を供試した。

##### 2 薬剤感受性試験

アンピシリン(ABPC)、ストレプトマイシン(SM)、カナマイシン(KM)、ナリジクス酸(NA)、テトラサイクリン(TC)、クロラムフェニコール(CP)、の6薬剤について、NCCLS法に準拠し、センシディス

ク(BBL)を用いたKB法により試験した。

##### 3 薬剤耐性遺伝子解析

菌株の解析は、広島大学大学院生物圏科学研究科食品衛生学教室に依頼して行った。

##### (1) -ラクタマーゼ遺伝子(bla)検出

TEM, SHV, OXA, CTX-M, CMY, GES の各 bla 遺伝子群を個別のPCR法で増幅検出した。

##### (2) integron 検出

class 1 および class 2 integron の有無を各 class の保存領域に特異的な primer を用いた PCR 法で検出した。

##### (3)塩基配列解析

PCR 増幅 DNA の両鎖塩基配列をダイレクトシーケンス法により決定し、薬剤耐性遺伝子を同定した。

#### 結 果

##### 1 薬剤耐性遺伝子の解析結果

2005年に本市で分離した腸管出血性大腸菌9株は、class1 および class2 の Integron は検出されなかった。一方、ペニシリン系、セファロsporin系、ならびにセフェム系抗生物質の耐性遺伝子を解析する目的の bla 遺伝子を解析した結果、ABPC耐性、および SM・ABPC耐性を示す O157:H7 の5菌株から TEM-1 型の bla 遺伝子が検出された。広島地域では、2003年に初めて TEM-1 型の O157:H7(stx1, stx2)が分離されたことが報告<sup>1)</sup>されたが、今回、O157 や O26 菌株の複数事例株から TEM-1 型 bla 遺伝子が検出されたことから、今後

表1 広島市で分離された腸管出血性大腸菌の Integron 解析結果

菌株 No.	血清型	Integron	薬剤耐性
EC05012	O111:H-	-	
EC05013	O157:H7	-	
EC05014	O26:H11	-	
EC05015	O26:H11	-	TC
EC05016	O157:H7	-	ABPC
EC05017	O157:H7	-	ABPC
EC05018	O26:H11	-	ABPC
EC05020	O157:H7	-	SM・ABPC
EC05021	O157:H7	-	SM・ABPC

表2 広島市で分離された腸管出血性大腸菌の bla 遺伝子の検出と型別結果

No.	菌株 No.	血清型	CTX-M	TEM	SHV	CMY	OXA
1	EC05012	O111:H-	-	-	-	-	-
2	EC05013	O157:H7	-	-	-	-	-
3	EC05014	O26:H11	-	-	-	-	-
4	EC05015	O26:H11	-	-	-	-	-
5	EC05016	O157:H7	-	TEM-1	-	-	-
6	EC05017	O157:H7	-	TEM-1	-	-	-
7	EC05018	O26:H11	-	TEM-1	-	-	-
8	EC05020	O157:H7	-	TEM-1	-	-	-
9	EC05021	O157:H7	-	TEM-1	-	-	-

の保有状況の推移に注意が必要である。

対し感謝いたします。

謝 辞

菌株を分離，分与頂きました各医療機関および検査機関の諸先生方に深謝いたします。また，共同研究として，各種 bla 遺伝子およびインテグロン遺伝子の検出，ならびに薬剤耐性遺伝子カセットの塩基配列解析を実施して頂いた広島大学大学院生物圏科学研究科食品衛生学教室の諸先生方に

文 献

- 1) Ashraf M. Ahmed et al : Genomic analysis of multidrug-resistant strain of enterohaemorrhagic Escherichia coli O157:H7 causing a family outbreak in Japan, J Med Microbiol, 54, 1 ~ 6, 2005